大腸菌群

一般生菌数検査で調整した試料溶液1ｍｌを無菌的にペトリ皿に分注する。あらかじめ50℃に保温されたデソキシコレート寒天培地15ｍｌ～20ｍｌを加えて混和する。カンテン凝固後、その上から同培地を薄く重層する。凝固後ペトリ皿を倒立して25℃で24時間間培養する。出現した赤色集落を計測する。

定量法

本品及びブドウ糖、ソルビトール、レボグルコサン（注３）を、それぞれ約４ｇ、約250ｍｇ、約160ｍｇ、約250ｍｇを精密に量り、水を加えて溶かして正確に100ｍｌずつとし、検液及び標準液とする。それぞれの標準液20μｌにつき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、得られたクロマトグラムから求めたピーク面積を縦軸に、標準品の採取量を横軸にとり、検量線を作成する。検液を、検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録させ、被検成分のピーク面積を測定し、検量線を用いて定量を行う。得られた被検成分値を用い、計算式によりブドウ糖のβ―1,6結合を持つ重合物の含量を求める。

操作条件

検出器　示差屈折計

カラム充てん剤　ポリスチレンジビニルベンゼン陽イオン、陰イオン交換樹脂

カラム管　内径7～9ｍｍ、長さ15～30ｃｍのステンレス管

カラム温度　30℃

移動相　0.0005mol/l 硫酸

流量　ブドウ糖の保持時間が約8.5分となるように調整する。

計算式

ブドウ糖のβ―1,6結合を持つ重合物（%）

＝100-(強熱残分)-(ブドウ糖%)-(ソルビトール%)-(レボグルコサン%)

（注１）ブドウ糖：本品の規格は日本薬局方ブドウ糖に準じるが、乾燥したものを定量する時、ブドウ糖含量は99.5%以上である。

（注２）標準カンテン培地

ブドウ糖	1.0ｇ
酵母エキス	2.5ｇ
ペプトン	5.0ｇ
カンテン	15.0ｇ
水	1,000ｍｌ

全成分を混和し、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後のｐH7.0～7.4である。

（注３）レボグルコサン：ブドウ糖を加熱処理した際に生成される分子内脱水物で、1,6 無水ブドウ糖。

この規格及び試験方法においては、別に規定するもののほか、食品添加物公定書通則及び一般試験法を準用する。

グアーガム分解物

定　　義　本品は、グァー（Cyamopsis tetragonolobus）の種子中に含まれるガラクトマンナンをヘミセルラーゼ（注１）で加水分解して得られた食物繊維画分である。

含　　量　本品を乾燥物換算したものは、グアーガム分解物（食物繊維として）60％以上含む。

性　　状　本品は、類白～微黄色の粉末又は粒で、わずかににおいがある。

確認試験

(1) 本品 20g にイソプロピルアルコール 4ml を加えてよく湿らせた後、激しくかき混ぜながら水 200ml を加え、更に均一に分散するまで激しくかき混ぜるとき、わずかに粘性のある液になる。この液を沸騰した水浴上で約 10 分間加熱した後、室温まで冷却するとき、その粘性は加熱前とほとんど変わらない。

(2) 室温まで冷却した(1)で得た 10％水溶液 10ml にホウ酸ナトリウム溶液（1→20）2ml を加え、混和して放置するとき、ゼリー状にならない。

純度試験

(1) たん白質　7.0％以下　本品約 0.15g を精密に量り、窒素定量法中のセミミクロケルダール法により試験を行う。

　0.005mol/l 硫酸 1ml=0.8754mg たん白質

(2) 酸不溶物　7.0％以下　「加工ユーケマ藻類」の純度試験（5）を準用する。

(3) 重金属　Pb として 20μg/g 以下（1.0g、第２法、比較液　鉛標準液 2.0ml）

(4) 鉛　Pb として 10μg/g 以下（1.0g、第１法）

(5) ヒ素　As_2O_3 として 1.0μg/g（1.0g、第３法、装置 C，比較液　ヒ素標準液 1ml）

乾燥減量　14.0％以下（105°C，３時間）

灰　　分　2.0％以下（800°C，５時間）

微生物限度

微生物限度試験法により試験を行うとき、本品 1g につき、細菌数は 10,000 以下、真菌数は 1,000 以下である。また、大腸菌は認めない。

定 量 法

本品約 1g を精密に量り、0.08mol/l リン酸緩衝液（pH6.0）（注２）50ｍｌを加えて攪拌し、溶解、分散させる。ターマミル溶液（注３）0.1ml を加え、沸騰水溶液中で時々攪拌しながら 15～30 分間加熱する。冷却後、0.275mol/l 水酸化ナトリウム試液（注４）10ｍｌを加えて pH7.5±0.1 に調整する。プロテアーゼ（注５）5mg を加え、振とうさせながら 60℃で 30 分間、加温する。冷却後、0.325mol/l 塩酸溶液（注６）10ml を加えて pH4.5±0.2 に調整する。アミログルコシダーゼ（注７）0.3ml を加え、振とうさせながら 60℃で 30 分間、加温し、冷却後、蒸留水を加え、100ml とする。その後、60℃に加温

した95%エタノール（注８）400ml を攪拌しながら加え、室温で60分間放置する。その後、毎分約3,000回転で５分間遠心分離し、上清を捨てる。残渣を78%エタノール（注９）20ml で３回、95%エタノール 10ml で２回、さらにアセトン 10ml で２回洗浄し、毎回同様に遠心分離し、上清を除去する。残渣を少量の 95%エタノールで重量既知の白金製、石英製又は磁性のるつぼに移し、105℃で一晩乾燥し、デシケーター中で放冷した後、その重量を精密に量る。

上記操作によって得られた残渣について、一つは窒素定量法によりたん白質を定量し（係数：6.25）、さらに、一つは、灰分試験法（525℃、５時間）を行う。

別に空試験を行い補正する。

$$\text{グアーガム分解物(食物繊維含量として)(\%)} = \frac{R - \{(P+A)/100 \times R\} - B}{S} \times 100$$

R：残渣重量平均値（mg）
P：残渣中のたん白質（%）
A：残渣中の灰分（%）
S：試料採取量（mg）
B：空試験補正値（mg）

$B = Br - \{(Bp+Ba)/100 \times Br\}$

Br： 空試験の残渣（mg）
Bp： 空試験の残渣中のたん白質（%）
Ba： 空試験の残渣中の灰分（%）

（注１）ヘミセルラーゼ：β-ガラクトマンナナーゼ、麹菌等由来(EC 3.2.1.78)
（注２）0.08mol/l リン酸緩衝液（pH6.0）：リン酸二ナトリウム、無水 1.400ｇとリン酸一ナトリウム 10.94ｇを量り、水を加えて溶かし 1,000ml とする。pH を確認する。
（注３）ターマミル：熱安定性α-アミラーゼ（EC 3.2.1.1）、濃度：10,000-11,000 単位/ml
（注４）0.275mol/l 水酸化ナトリウム試液： 水酸化ナトリウム 11.0ｇを水に溶かし、1,000ml にする。
（注５）プロテアーゼ：バチルス属サブスティリス（EC 3.4.21.62），濃度： 7-15 単位/mg
（注６）0.325mol/l 塩酸試液： 塩酸 27ml を量り、水を加えて 1,000ml にする。
（注７）アミログルコシダーゼ：麹菌液化型アミラーゼ（EC 3.2.1.3），濃度：2,000-3,300 単位/ml
（注８）95%エタノール：C_2H_5OH［エタノール（95）（エチルアルコール（95），特級）
（注９）78%エタノール：水 207ml に 95%エタノールを加えて 1,000ml とする。

この規格及び試験方法においては、別に規定するもののほか、食品添加物公定書通則及び一般試験法を準用する。

大豆オリゴ糖

定　　義　本品は、大豆（*Glycine max*）から抽出した水溶性糖類の濃縮物で、スタキオース、ラフィノースを主成分とするものである。

含　　量　本品は、スタキオースおよびラフィノース 20%以上を含む。

性　　状　本品は、無～淡黄色の透明のシロップ状の液体である。

確認試験　検液及びスタキオース及びラフィノース標準液につき、定量法の操作条件で液体クロマトグラフィーを行うとき、本品に含まれる大豆オリゴ糖（スタキオース、ラフィノース）のピークの保持時間は標準品のピークの保持時間と一致する。

純度試験

(1) 溶状　無色または淡黄色、澄明（34.2→100）

(2) 液性　pH 4.5～6.5

(3) 重金属　Pb として 1μg/g 以下（1.0 g、第 2 法、比較液　鉛標準液 2.0ml）

(4) ヒ素　AS_2O_3 として 1μg/g 以下（1.0g，第 2 法，装置 C，比較液　ヒ素標準液 0.5ml）

微生物限度

微生物限度試験法により試験を行うとき、本品 1g につき細菌数は 300 以下、真菌数は 5 以下である。

定 量 法

本品約 1 g を精密に量り、これに水を加えて正確に 100ml とし、検液とする。別に、スタキオース標準品（四水和物）（注１）およびラフィノース標準品（五水和物）（注２）を常温・減圧下で 24 時間乾燥する。それぞれ、スタキオース標準品約 0.45 g および 0.9 g、ラフィノース標準品約 0.15g および 0.35 g を精密に量り、それぞれ水に溶かして 100ml とし、これらを標準液とする。検液および標準液 5μl につき、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、各糖のピーク高さ又はピーク面積を測定する。

大豆オリゴ糖（スタキオース、ラフィノース）含量（W/W%）＝（a+b）×100/c ×100/1000

a：検量線から求めた検液中のスタキオース（無水和物換算）の濃度（mg/ml）

b：検量線から求めた検液中のラフィノース（無水和物換算）の濃度（mg/ml）

c：試料採取量（g）

操作条件

検出器　示差屈折計

カラム充てん剤　スルホ基を結合させたスチレンジビニルベンゼン共重合体

カラム管　内径 8mm，長さ 30cm のステンレス管

カラム温度　70℃

移動相　水

流量　スタキオース及びラフィノースの保持時間が、それぞれ、約 5.4 分、約 5.7 分となるように調整する。

（注１）スタキオース標準品（四水和物）：

分子量；738.65

外観；白色の結晶性粉末

融点；110℃

比旋光度$[\alpha]^{20}_{D}$（C=1, H_2O）=約+133°

溶解性；水に可溶、エタノールに難溶

（注２）ラフィノース標準品（五水和物）：

分子量；594.51

外観；白色の結晶性粉末

融点；77-81℃

比旋光度$[\alpha]^{20}_{D}$（C=2, H_2O）=+102°～+106°

溶解性；水に可溶、エタノールに不溶

この規格及び試験方法においては、別に規定するもののほか、食品添加物公定書通則及び一般試験法を準用する。

フラクトオリゴ糖（1）

定　　義　本品はショ糖をフルクトシルトランスフェラーゼ（注1）により酵素反応させたものであり、1－ケストース、ニストース、フラクトシルニストースを主成分とするものである。

含　　量　本品は、フラクトオリゴ糖 55.0～60.0%で、1－ケストースを 24.0～35.0%，ニストースを 20.0～26%，1F－フラクトシルニトース 2.0～7.0%を含む.

性　　状　本品は、無色～淡黄色の粘ちょうな液体で、においがなく、甘みがある。

確認試験

定量法で規定した検液及び標準液につき、定量法の操作条件で液体クロマトグラフィーを行うとき、本品に含まれるフラクトオリゴ糖（1－ケストース、ニストース及び 1F-フラクトシルニストース）のピークの保持時間は標準品のピークの保持時間と一致する。

純度試験

(1) 液性　pＨ 5.0～6.0　(10ml、水 10ml)

(2) 重金属　Pb として 10μg／g 以下（2.0ｇ、第1法、比較液　鉛標準液 2.0ml）

(3) ヒ素　AS_2O_3 として 4μg／g 以下（0.5g、第3法、装置 B）

微生物限度

微生物限度試験法により試験を行うとき、本品 1g につき細菌数は 300 以下である。また大腸菌は認めない。

定 量 法

本品を乾燥(五酸化リンの存在下、真空デシケータ中で恒量に達するまで)したもの約 5g を精密に量りグリセリン（5→100）20ml を加えた後、水を加えて正確に 100ml とし検液とする。

別にフラクトオリゴ糖標準品（注 2.）を乾燥(五酸化リンの存在下、真空デシケータ中で恒量に達するまで)し、約 1,2,3,4 及び 5g ずつをそれぞれ精密に量り、それぞれにグリセリン（5→100）を正確に 1ml 加え、水で正確に 100ml とし、標準液とする。検液及び標準液５μl につき、次の条件で液体クロマトグラフィーを行い、検液のグリセリンのピーク面積及び各フラクトオリゴ糖（グリセリンの対する相対保持時間が、1－ケストース約 2.03、ニストース約 2.57、1F-フラクトシルニストース約 3.27）の面積を測定する。 検液の各面積の比から検量線により求められた検液中の1－ケストースの濃度(mg／mg グリセリン)A、ニストースの濃度(mg／mg グリセリン)B 及びフラクトシルニストースの濃度(mg／mg グリセリン)C を求め、次式により、検液中の総フラクトオリゴ糖(1－ケストース＋ニストース＋1F-フラクトシルニストース)の含有量を求める。

$$総フラクトオリゴ糖(\%) = (A+B+C) \times \frac{1000}{試料採取量(mg)} \times 100$$

操作条件

検出器　ＲＩ検出器

カラム充てん材　粒径5μmのアクリルアミド基化学結合シリカ

カラム管　内径4.6mm、長さ25cmのステンレス管

カラム温度　40℃

移動層　アセトニトリル／水混液(70：30)

流速　1ml／分

（注１）フルクトシルトランスフェラーゼ：β-フラクトフラノシダーゼ、
*Aureobasidium*属FERM P4257由来

（注２）フラクトオリゴ糖標準品

１－ケストース　本品は白色の粉末でにおいがなく、甘味がある。

含量　本品を乾燥（五酸化リンの存在下、真空デシケータ中で恒量に達するまで）したものは、１－ケストース99.0%以上を含む。

定量法　本品1g及びブドウ糖１ｇをそれぞれ精密に量り、水を加えて溶かし正確に100mlとし、その10μlについて以下の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、ブドウ糖及び、１－ケストース（ブドウ糖に対する相対保持時間 1.70）のピーク面積を測定し、１－ケストースピーク面積のブドウ糖ピーク面積に対する比に100を乗じたものを含量(%)とする。

操作条件

検出器　ＲＩ検出器

カラム充てん材　細孔径12nm粒径5μmのODS結合シリカ

カラム管　内径4.6mm、長さ15cmのステンレス管

カラム温度　40℃

移動層　水

流速　1ml／分

ニストース　本品は白色の粉末でにおいがなく、わずかに甘味がある。

含量　本品を乾燥（五酸化リンの存在下、真空デシケータ中で恒量に達するまで）したものは、ニストース99.0%以上を含む。

定量法　本品1g及びブドウ糖１ｇをそれぞれ精密に量り、水を加えて溶かし正確に100mlとし、以下の操作条件において、その10μlで液体クロマトグラフィーを行い、ブドウ糖及び、ニストース（ブドウ糖に対する相対保持時間 3.04）のピーク面積を測定し、ニストースピーク面積のブドウ糖ピーク面積に対する比に100を乗じたものを含量(%)とする。

操作条件

１－ケストースに同じ。

1F-フラクトフラノシルニストース　本品は白色の粉末でにおいがなく、わずかに甘味がある。

含量　本品を乾燥したものは、1F-フラクトフラノシルニストース 99.0%以上を含む。

定量法　本品 1g 及びブドウ糖１ｇをそれぞれ精密に量り、水を加えて溶かし正確に 100ml とし、以下の操作条件において、その 10μl で液体クロマトグラフィーを行い、ブドウ糖及び、1F-フラクトフラノシルニストース（ブドウ糖に対する相対保持時間 6.11）のピーク面積を測定し 1F-ニストースピーク面積のブドウ糖ピーク面積に対する比に 100 を乗じたものを含量(%)とする。

操作条件

１－ケストースに同じ。

この規格及び試験方法においては、別に規定するもののほか、食品添加物公定書通則及び一般試験法を準用する。

フラクトオリゴ糖（2）

（①粉末　②液体）

定　　義　本品は、ショ糖をインベルターゼ（注1）で酵素反応（ショ糖の果糖側に果糖をβ-2,1結合させる）して得られた1-ケストース、ニストース、フラクトフラノシルニストースを主成分とするものである。

含　　量　①本品を乾燥物換算したものは、フラクトオリゴ糖 95%以上を含み、主な成分としてフラクトオリゴ糖中に1-ケストースを15.0～65.0%、ニストースを25.0～75.0%、1F-フラクトシルニストースを0～30.0%を含む。

②本品は、フラクトオリゴ糖 55%以上を含み、主な成分としてフラクトオリゴ糖中に 1-ケストースを 15.0～65.0%、ニストースを 25.0～75.0%、1F-フラクトシルニストースを 0～30.0%含む。

性　　状　①粉末　本品は、白色の粉末、粒、結晶又はこれらの混合物で、においがなく、甘味がある。

②液体　本品は、白～淡黄色で澄明のシロップ状の液体で、無～白色の結晶を析出することがあり、においがなく、甘味がある。

確認試験

(1)　検液及びフラクトオリゴ糖標準液を定量法の操作条件で液体クロマトグラフィーを行うとき、ピークの保持時間は標準品のピークの保持時間と一致する。

(2)　本品の水溶液（1→20）を検液とし、フラクトオリゴ糖（注2）、白糖、果糖及びブドウ糖標準品の水溶液（1→20）を対照液とする。これらの液につき、薄層クロマトグラフ法により試験を行う。検液及び対照液2μlずつを薄層クロマトグラフ用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次に、酢酸/クロロホルム/水混液（7：6：1）を展開溶媒として約7cm展開した後、薄層板をドライヤーにて熱風乾燥する。これに発色液（注3）を噴霧した後、300℃で約1分加熱するとき、ブドウ糖から得たスポットは青～紺色、果糖は赤～橙色、白糖、1-ケストース、ニストースおよび1F-フラクトシルニストースは赤～紫色を呈し、検液と対照液のスポットの移動位置により確認する。

(3)　本品の水溶液（1→50）の味は甘い。

純度試験

(1) ①　溶状　澄明（25.0g、水50.0ml）

②　液性　4.5～7.0（3.0g、水10ml）

(2) 鉛　Pbとして1.0μg/g以下（10.0g、第1法）

(3) ヒ素　As_2O_3として1.0μg/g以下（5.0g、第3法、装置C、比較液　ヒ素標準液5.0ml）

乾燥減量　①粉末　5%以下（減圧、90℃、4時間）

灰　　分　0.1%以下

微生物限度